



Title	光合成細菌における水素生産促進作用とその代謝制御に関する研究
Author(s)	川口, 秀夫
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43353
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	川 口 秀 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 9 7 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成14年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学 位 論 文 名	光合成細菌における水素生産促進作用とその代謝制御に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 宮本 和久 (副査) 教 授 八木 清仁 教 授 那須 正夫 教 授 西原 力

論 文 内 容 の 要 旨

燃料電池の燃料となる水素は、次世代のクリーンなエネルギーとして各分野から注目を集めているが、現時点ではコストの問題からその実用的な製造法は確立されていない。そこで本研究では、太陽光を利用した水素生産システムの構築を目指して、光合成細菌を利用した生物学的な光水素生産システムについて検討を行った。

水素生産の原料には微細藻のバイオマスを利用した。微細藻類は高い二酸化炭素固定能を有するため、工業施設などの排ガス中に含まれる二酸化炭素の固定媒体としての利用が検討されている。そこで本研究では、バイオマスの細胞内に蓄積したデンプンを水素へと再資源化することを試みた。しかし、光合成細菌は太陽光を利用して水素生産を行える利点はあるが、一般に水素生産基質として有機酸や単糖を利用するが、デンプンなどの高分子を利用できない。そのため、藻体デンプンから直接水素を生産するためには、デンプンをいったん有機酸へと変換する過程が必要である。そこで、光合成細菌の水素生産基質として優れた乳酸を中間体として、藻体デンプンから直接水素を生産することを目的に、光合成細菌 *Phodobium marinum* A-501 と乳酸菌 *Lactobacillus amylovorus* から成る微生物混合培養系の構築を検討した。

D. tertiolecta 由来のバイオマスを原料に、混合培養系による水素生産を行った結果、藻体デンプンはほとんど消費され水素へと変換された。これまでも混合培養系を利用した水素生産システムについては幾つかの研究例があり、これらのシステムを利用した基質から水素への変換率は50~60%と報告されている。しかしこれらのシステムでは、構成微生物が基質として利用しやすい精製したセルロースや標品デンプン、グルコースなどを原料としているのに対し、今回用いた混合培養系では無処理の藻体バイオマスを直接原料として、60%と先のシステムと比較して同等もしくはそれ以上の変換率を得ることに成功した。

また、*L. amylovorus* による発酵液上清を中和処理した後に水素生産基質として添加した結果、*R. marinum* A-501 による水素生産を触媒するニトロゲナーゼ (N_2ase) 活性は、乳酸培地を用いた場合と比較してより高い活性が得られた。同様の促進効果は、藻体バイオマスの細胞破砕液からデンプンを含む固形成分を除いた上清（以下、藻体抽出液と表記）を乳酸培地に添加した場合にも認められた。この結果、*R. marinum* A-501 における N_2ase 活性の増大は、これらの藻体バイオマスの細胞内に元来存在する成分による作用であることが明らかとなった。

そこで次に、この藻体抽出液の添加による水素生産促進効果を、基質代謝に与える影響から解析することを試みた。乳酸培地に藻体抽出液を添加した場合の水素生産を調べた結果、藻体抽出液の添加によってグルタミン酸及び乳酸の

取り込み速度、増殖速度、ならびに水素生産速度のすべてが増大した。この水素生産に対する促進効果を解析するため、*R. marinum* A-501の水素生産モデルの作成を試み、基質代謝および水素生産に対する影響を考察した。さらに、モデルから得た情報をから藻体抽出液の添加が乳酸消費の振り分けに与える影響をまとめた結果、細胞の増殖分として消費された乳酸の量には変動がなかった。これに対し、水素へと変換された乳酸の割合は藻体抽出液の添加によって28%から48%へと増加した。これは、乳酸代謝における還元力への振り分けが増大した可能性を示唆している。そこで、作成したモデルを利用して、 N_2ase 活性を本来の1.5倍に増大させた場合の水素生産を予測したが、水素生産に対する影響はほとんど認められなかった。そこで次に、乳酸から還元力への変換効率を本来の0.8から1.0に増加させた結果、乳酸から水素への変換率は増加を示した。以上の結果より、*R. marinum* A-501による水素生産の律速段階は乳酸代謝による還元力の生成過程であり、藻体抽出液はこの律速を解除もしくは緩和させることで、水素生産に必要な還元力の供給を促進している可能性が示唆された。

水素生産モデルを利用した解析により、藻体抽出液の添加が乳酸異化代謝による還元力の供給量を増大させる可能性が示されたが、水素生産に必要な ATP は光合成による光リン酸化により供給されることが知られている。そこで次に、この現象の生理学的な意味と作用機序を考察するため、光合成に与える影響を検討した。実験の結果、藻体抽出液の添加は N_2ase 活性を増大させると共に、細胞内の ATP 含量を増加させることが明らかとなった。さらに、細胞内の色素含量を測定した結果、藻体抽出液の添加によって*R. marinum* A-501のバクテリオクロフィルおよびカロチノイド含量が増加していることが明らかとなった。両色素は共に光合成細菌の光合成器官における光捕集系の重要な構成成分であるため、これらの成分含量の増加は光リン酸化による ATP の供給を促進すると共に、潜在的な光エネルギー捕集能力の増加を意味する。そこで次に、本来は330W/m²の光飽和条件光で行っている実験を80W/m²の光制限条件で同様に行い、 N_2ase 活性に与える影響を調べた。その結果、光制限条件では光飽和条件と比較して N_2ase 活性が低い値となった。しかし、光制限条件における藻体抽出液を添加した場合の N_2ase 活性は、添加しなかった場合よりも高い値を示した。また、この値は藻体抽出液を添加しなかった光飽和条件と同等の値であった。以上の結果より、藻体抽出液の添加は細胞内の光合成色素含量の増加を介して光エネルギーの捕集能力を増加させ、光の利用効率を高める作用を示す可能性が示唆された。

光合成細菌における水素生産は、末端酸化系における還元力の処理系としての役割を担っている。また、 N_2ase を介した水素の生成は光合成により供給される ATP の加水分解と共役しているため、光依存的な反応となっている。このような背景から、藻体抽出液添加により認められた ATP 供給の促進は、基質代謝に始まる末端酸化系の最終段階における N_2ase による消費を促進することで、間接的に基質代謝による還元力の生成を促進していると考えられる。

これまでにもモデル化合物を基質とした水素生産は数多く報告されているが、バイオマスを原料とした研究例はほとんどない。本研究によりバイオマスから水素を生産できることを証明したことは、光合成細菌による水素生産の実用化に向けて、非常に重要な意味を持つと言える。また藻体抽出液の添加によって、光利用効率の上昇を介して基質代謝が促進される可能性を示した。データは示していないが、この促進効果は他の光合成細菌による水素生産においても確認された。これらの結果はバイオマスの水素生産原料としての有用性を立証するだけでなく、未だ不明な点の多い光合成細菌の代謝系を解明していく上で非常に重要な情報となるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、微生物機能を応用した環境保全研究の一環であり、光合成細菌を含む微生物混合培養系を使用して微細藻類バイオマスから水素を生産することの特徴としている。微細藻類の高い二酸化炭素固定能を利用して、地球温暖化ガスの一つである二酸化炭素を固定・回収することは、地球温暖化対策として有効な手段となる。本研究では、この二酸化炭素固定により生じたバイオマスを生物資源として捉え、水素へと再資源化することを試みている。光合成細菌を使用すれば、太陽光を利用して水素を生産することが可能である。しかし、一般に光合成細菌は、糖や有機酸などの有機化合物を基質として水素を生産するが、藻体バイオマス中の主成分であるデンプンなど高分子化合物を利用できない。本研究は、デンプン資化性の乳酸菌*Lactobacillus amylovorus*と光合成細菌*Rhodobium marinum*との混合培

養系を構築することで、藻体デンプンから直接水素を生産することに成功した。二酸化炭素の固定により生じる大量のバイオマスが、水素生産の原料として利用できる可能性を示したことは、実用化に向けて重要な意味をもつものである。

また、原料となる藻体バイオマスの抽出液には、光合成細菌の水素生産を促進する作用があることを明らかにしている。さらに、これまでにあまり報告のない光合成細菌の水素生産モデルを作成し、促進効果の定量的な解析に応用した。その結果、水素生産の律速段階は、光合成細菌の乳酸代謝における還元力の生成過程であり、藻体抽出液の添加はこの律速を解除ないしは緩和することで、還元力の供給量を増加させている可能性が示された。

以上の結果は、微細藻類バイオマスが水素生産原料として実用的であるとともに、光合成細菌の水素生産を促進する付加価値をもたらす優れた基質であることを明らかにしている。環境薬学の観点から、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものとする。